

1. Варбанец Л. Д., Мурас В. А., Гвоздяк Р. И., Васюренко З. П., Рубан Н. М. Липополисахариды *Pseudomonas solanacearum* // Микробиол. журн. – 1992. – **54**, № 2. – С. 26–31.
2. Варбанец Л. Д., Здорovenko Г. М., Книрель Ю. А. Методы исследования эндотоксинов. – Киев: Наук. думка, 2006. – 237 с.
3. Винарская Н. В., Варбанец Л. Д. Химическая характеристика и серологическая активность липополисахаридов *Pseudomonas solanacearum* // Микробиол. журн. – 2002 – **64**, № 1. – С. 37–47.
4. Hendrick C. A. Lipopolysaccharide-defective mutants of the wilt pathogen *Pseudomonas solanacearum* / Hendrick C. A., Sequeira L // Appl. Environ. Microbiol. – 1984. – **48**, № 1. – P. 94–101.
5. Janse J. D. Potato brown rot in western Europe – history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies // Bull. OEPP. – 1996. – **26**, N 3-4. – P. 679–695.
6. Knirel Y.A., Valvano M.A. Bacterial lipopolysaccharides: structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells. – New York: Springer, 2011. – 453 p.
7. Newman M.-A. Priming, induction and modulation of plant defence responses by bacterial lipopolysaccharides // J. Endotoxin Res. – 2007. – **13**, N 2. – P. 69–84.
8. Norman D.J., Zapata M., Gabriel D.W., Duan Y.P., Yuen J.M., Mangravita-Novo A., Donahoo R.S. Genetic diversity and host range variation of *Ralstonia solanacearum* strains entering North America // Phytopathol. – 2009. – **99**. – P. 1070–1077.

Отримано 13.09.2012

УДК 573.4:546.36:631.4:573.4

**О.Ю. Паренюк<sup>1</sup>, О.В. Мошинець<sup>2</sup>, Л.В. Титова<sup>3</sup>, С.Є.Левчук<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна

<sup>2</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

<sup>3</sup> Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, МСП, Д03680, Україна

<sup>4</sup> УкрНДІ сільськогосподарської радіології НУБІП України,  
вул. Машинобудівників, 7, смт. Чабани, Києво-Святошинський район, 08162, Україна

### **ЯКІСНИЙ СКЛАД ДОМІНУЮЧИХ ФОРМ МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ЗАБРУДНЕНИХ РАДІОНУКЛІДАМИ ҐРУНТІВ, ТА ЇХ ЗДАТНІСТЬ ДО АКУМУЛЯЦІЇ <sup>137</sup>Cs**

Виділено і ідентифіковано домінуючі форми мікроорганізмів, отриманих з ґрунтів, забруднених радіонуклідами. Проаналізовано здатність до акумуляції <sup>137</sup>Cs бактеріями, ізольованими з забруднених територій, та колекційними культурами, що не були адаптовані до наявності радіонукліда. Показано, що колекційна культура *Bacillus megaterium* УКМ В-5724 має найбільшу здатність до акумуляції радіонукліда, яка становить 414,3±101,0 Бк/г біомаси, тобто 2,52±0,32 % від загальної радіоактивності середовища.

**К л ю ч о в і с л о в а:** радіонуклідне забруднення, акумуляція <sup>137</sup>Cs, мікробоценоз.

Одним із найтяжчих наслідків аварії на Чорнобильській АЕС стало забруднення радіонуклідами значних площ сільськогосподарських угідь, велика частина яких була виведена з використання. В складі аварійних викидів була представлена вся низка радіонуклідів, що утворюються в процесі ядерного розпаду, але з причин порів-

© О.Ю. Паренюк, О.В. Мошинець, Л.В. Титова, С.Є.Левчук, 2013

няно довгого періоду напіврозпаду (~ 30 років), невеликої атомної маси та високої біофільності, основними дозоутворюючими елементами стали ізотопи стронцію-90 ( $^{90}\text{Sr}$ ) та цезію-137 ( $^{137}\text{Cs}$ ). Оцінюючи вплив радіонуклідного забруднення ґрунту на екосистему, традиційно головну увагу приділяють стану і структурі угруповань рослин. Що стосується мікробних угруповань, метаболізм яких значною мірою визначає біологічну доступність радіонуклідів, їх трансформацію у часі і вплив на навколишнє середовище, то дотепер таких досліджень як в Україні, так і в інших країнах, проводилося недостатньо. На початку 1990-х рр. було відкрито і описане явище меланізації угруповань ґрунтових мікроміцетів на територіях із підвищеними рівнями радіонуклідного забруднення [2, 3]. Є дані щодо загального зниження біорізноманіття мікроорганізмів на забруднених ґрунтах, порівняно з контрольними [6, 9, 10]. Важливо відмітити той факт, що немає однозначних відомостей щодо впливу радіонуклідного забруднення на загальну чисельність мікроорганізмів. Так, у роботі І.К. Кравченко та ін. [6] зазначено, що забруднення території на рівні до  $10 \text{ Ки/км}^2$  ( $370 \text{ кБк/м}^2$ ) має стимулюючу дію на розвиток ґрунтових мікроорганізмів. П.В. Рокитко та ін. [9] показали, що стимулюючим є вплив забруднення на рівні до  $15 \text{ Ки/км}^2$  ( $555 \text{ кБк/м}^2$ ) - щільності забруднення, яка вважається пограничною між зоною відчуження та зоною безумовного (обов'язкового) відселення. Тоді, як Л.В. Григор'єва та ін. [1] відмічають, що кількість ґрунтових мікроорганізмів стабільно зменшувалась при зменшенні відстані до ЧАЕС, тобто при збільшенні рівня радіонуклідного забруднення ґрунту, яке варіювало від  $15$  до  $55 \text{ Ки/км}^2$  ( $555\text{--}2035 \text{ кБк/м}^2$ ).

Майже відразу після аварії на Чорнобильській атомній станції проводилися роботи щодо оцінки впливу ґрунтових мікроорганізмів на міграцію основних дозоутворюючих радіонуклідів  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$ . Григор'єва та ін. відзначали суттєвий вплив мікрофлори на поведінку ізоотопів цезію, в той час як міграція стронцію не змінювалася залежно від того, був ґрунт стерильним чи заселеним мікроорганізмами [1]. Тому автори представленого дослідження вважали за доцільне вивчити перерозподіл в оточуючому середовищі саме  $^{137}\text{Cs}$ . Наразі небагато відомо щодо акумуляції цезію ґрунтовою мікрофлорою, хоча робіт щодо дослідження цезій-акумулюючих мікроорганізмів чимало. Відомою роботою у цій галузі є дослідження Н. Томіока зі співавторами [16] мікроорганізмів роду *Rhodococcus*, які мають надзвичайно високу здатність до акумуляції ізоотопів цезію. Японські дослідники встановили, що різні види бактерій істотно відрізняються за можливостями до акумуляції радіонукліду: клітини *Rhodococcus spp.*, виділені зі зразків ґрунту, накопичували значно більшу кількість іонів цезію при вирощуванні в середовищі з вмістом стабільного іону, ніж штам *Pseudomonas spp.*, який при вирощуванні в тих самих умовах не виявив схильності до накопичення цього катіону [16]. Е. Johnson та ін. [12] також повідомляли про наявність відмінностей в поглинанні  $^{137}\text{Cs}$  бактеріями, виділеними із забрудненого радіоактивним цезієм ґрунту. Існує думка [16, 13], що різна здатність до акумуляції іонів цезію пояснюється неоднаковим рівнем їх спорідненості з різними катіонами, для яких в клітинах є специфічні транспортні системи, хоча значний вплив на ці процеси можуть мати фізико-хімічні фактори. Наприклад, швидкість поглинання  $\text{Cs}^+$  бактеріями *Vibrio alginolyticus*, виділеними з морської екосистеми, збільшилась більше, ніж вдвічі, при підвищенні рН оточуючої води з 7,5 до 8,9 [13].

Як показує історія, використання енергії атому в мирних цілях пов'язане зі значною небезпекою аварій і інцидентів з викидом радіоактивних речовин у навколишнє середовище. Так аварія, що трапилася трохи більше року назад на ядерному реакторі в Японії, спричинила відродження інтересу до використання мікроорганізмів для прискорення очищення ґрунту від радіонуклідів [15].

Метою роботи було виділення та ідентифікація домінуючих форм мікроорганізмів із забруднених радіонуклідами ґрунтів, а також аналіз їх здатності до акумуляції  $^{137}\text{Cs}$  порівняно з колекційними культурами.

**Матеріали і методи.** У роботі використовували бактерії з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології НАН України

ім. Д.К. Заболотного: *Azotobacter chroococcum* УКМ В-6003, *A. chroococcum* УКМ В-6082, *Agrobacterium radiobacter* ІМВ В-7246, *Bacillus megaterium* УКМ В-5724 та бактерії, що були виділені із забруднених радіонуклідами ґрунтів.

Для виділення бактерій відбір проб ґрунту було здійснено з території чотирьох лісових біоценозів із різним рівнем радіонуклідного забруднення. Ґрунти на цих територіях відносяться до дерново-підзолистих середнього ступеня опідзоленості. Точки відбору проб, чотири з яких знаходяться на території зони відчуження, були обрані за допомогою бази даних УкрНДІ сільськогосподарської радіології НУБіП України [5], що дало змогу виділити максимально подібні за ґрунтовими умовами біогеоценози.

Найвищий рівень радіонуклідного забруднення має біогеоценоз, розташований неподалік від відселеного після аварії с. Копачі. Названий показник тут сягає  $2280 \pm 20$  кБк/м<sup>2</sup>. Майже в десять разів менш забрудненими є зразки з території с. Залісся, що також розташоване на території зони відчуження. Щільність поверхневого забруднення ґрунту тут становить  $290 \pm 50$  кБк/м<sup>2</sup>. Найменшим забрудненням очікувано характеризується точка, розташована за межами зони відчуження – вже у зоні безумовного (обов'язкового) відселення. Тут щільність забруднення становить  $50 \pm 10$  кБк/м<sup>2</sup>.

Для виділення бактерій готували ґрунтову суспензію, додаючи 1 г зразка до 9 мл стерильної водогінної води. Отриману суспензію розводили у 10 000 разів та висівали 0,05 мл цього розведення на агаризоване глюкозо-пептонне середовище – 5 г пептону, 3 г дріжджового екстракту, 0,2 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 г глюкози, 20 г агару на 1 літр водогінної води, рН 7,0 – 7,2. Культивування відбувалося протягом чотирьох діб при 28°C. Для подальшого аналізу з кожного зразка було відібрано дев'ять домінуючих ізолятів.

З виділених бактеріальних ізолятів отримували ДНК за допомогою UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MoBio, США), згідно з інструкцією.

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили за стандартним протоколом із використанням Таq-полімерази (Eurobio, Франція). З метою отримання фрагментів генів 16S рРНК було використано пару праймерів 8F3 (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') та 1492R (5'-CTTGTGCGGGCCCCGTCATTC-3') [17]. ПЛР проводили у наступному режимі: початкова денатурація протягом 5 хв при 95 °С, 35 циклів в режимі: 1 хв при 95 °С, 1,3 хв при 55 °С, 1,35 хв при 72 °С; 10 хв при 72 °С. Отримані продукти ампліфікації зберігалися при 4 °С. Ефективність ПЛР перевірялася шляхом електрофоретичного аналізу [7]. Отримані ПЛР-продукти було секвеновано фірмою «GATC» (Mulhouse, Франція).

Оскільки цезій – це елемент, який є метаболічним антагоністом калію у клітині, в тому числі прокариотичній [15], для аналізу накопичення <sup>137</sup>Cs досліджуваними мікроорганізмами використовували безкалійне рідке глюкозо-пептонне середовище з додаванням <sup>137</sup>Cs з питомою радіоактивністю 2600 Бк/мл. При цьому 2 мкл 12-годинної культури мікроорганізмів вносили до 10 мл поживного середовища і вирощували при 28 °С протягом 24 год., постійно перемішуючи за допомогою струшувача Biosan Multibio RS 24 (Латвія). Параметри циклу – струшування з амплітудою 5° протягом 5 с, поворот пробірок з середовищем на 20°, струшування з амплітудою 5° протягом 5 с. Надалі центрифугуванням при 8000 g протягом 5 хв. біомасу відділяли від культуральної рідини, після чого тричі ресуспендували в 0,6 % розчині NaCl і центрифугували в описаному вище режимі. Відміту таким чином біомасу розчиняли у 1,4 мл 65 % HNO<sub>3</sub>. Вміст <sup>137</sup>Cs у підготовлених пробах визначали за методикою ASTM E181-10 [11] з використанням гамма-спектрометра ADCAM-300, оснащеного напівпровідниковими детекторами з високочистого германію GEM-30185 (EG&G ORTEC, США). Дослід проводили з семикратною повторністю. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету програм Microsoft Office Excel.

**Результати та їх обговорення.** Для визначення ізолятів, що домінують, за результатами мікробіологічного аналізу було обраховано коефіцієнти домінування (табл. 1). Вважалося, що ізолят переважає у мікроценозі, якщо його індекс домінування (Ід) перевищував 0,1 [8]. Так при виділенні з ґрунтів с. Хочева домінуючими були ізоляти В1, В4d, В10 та В6b, при виділенні з ґрунту КПП Дитятки домінували В1, В4d, В2, В6b та В11, у висівах з ґрунту с. Залісся Ід перевищував 0,1 для ізолятів В4d, В2, В5, В11, В7, лабораторні умови були сприятливими для культивування ізолятів В4d, В10, В11, В15, виділених з ґрунтів с. Копачі.

Таблиця 1

**Склад домінуючих форм мікроорганізмів, виділених з ґрунтів з різним рівнем забруднення радіонуклідами**

Код ізоляту	Індекс домінування (І)			
	с. Хочева	КПП Дитятки	с. Залісся	с. Копачі
В1	0,18	0,11	0,05	0,02
В4d	0,20	0,20	0,26	0,30
В2	0,07	0,10	0,17	0,06
В5	0,09	0,08	0,11	0,08
В6b	0,12	0,10	0,05	0,07
В10	0,15	0,04	0,07	0,10
В11	0,03	0,14	0,10	0,10
В7	0,01	0,04	0,14	0,08
В15	0,08	0,03	0,02	0,16

Найбільш широко представленими при мікробіологічному аналізі виявилися мікроорганізми, які формували середні за розміром (5–10 мм в діаметрі) пласкі круглі колонії з рівним краєм та гладкою блискучою поверхнею, що мали коричнюватий центр, білі краї та втрачали забарвлення до прозорості ближче до краю колонії. Встановлено, що дані бактерії є грам-позитивними коками. За результатами сиквенс-аналізу з 99 % гомологією були ідентифіковані як *Arthrobacter oxydans* В4d, родина *Micrococcaceae*, що належать до облигатно-аеробних мікроорганізмів (табл. 2).

Таблиця 2

**Результати ідентифікації мікроорганізмів, виділених з забруднених радіонуклідами ґрунтів**

Код ізоляту	Довжина секвенованого фрагмента ДНК, п.н.	Гомологія з об'єктами бази даних GenBank, %	Найближчий відомий організм (номер в GenBank)
В1	758	99	<i>Bacillus mycoides</i> strain BCHMAC12
В4d	911	99	<i>Arthrobacter oxydans</i> strain Z1369 / strain 1662 / <i>A. sp. F+C/M7</i>
В2	739	97	<i>Flavobacterium</i> sp. TISTR 1602
В5	594	99	<i>Massilia</i> sp. mf19-1
В6b	819	98	<i>Burkholderia glathei</i> Hg11
В10	622	100	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i> strain TPK 2-4
В11	485	99	<i>Burkholderia</i> sp. IMER-B1-53
В7	759	99	<i>Streptomyces</i> sp. BK21 / 20 / 17 / 16 / 15
В15	549	99	<i>Streptomyces lavendulae</i> strain NRRL B-1230 / <i>S. lavendulae</i> subsp. <i>lavendulae</i> strain NBRC 12344. / NBRC

В усіх зразках ґрунту зустрічалися бактерії, які формували середні та крупні (більше 10 мм в діаметрі) кратероподібні колонії з рівним чітким краєм та розкресленою концентричними колами поверхнею, що мала кремово-коричневе забарвлення та густу тістоподібну структуру. Встановлено, що ці бактерії є грам-негативними,

при мікроскопіюванні мають вигляд паличок і з 99 % гомологією належать до роду *Massilia* sp. B5, облигатних аеробів родини Oxalobacteriaceae.

У проаналізованих зразках ґрунту досить широко було представлено рід *Streptomyces*. Два ізоляти стрептоміцетів було виділено із зразків дерново-підзолистого ґрунту, що зазнав радіонуклідного забруднення. Один із ізолятів формував велику кількість середніх і крупних за розмірами опуклих колоній із бахромчастим краєм та зморшкуватою поверхнею. Мікроорганізми утворювали борошністо-білі, непрозорі колонії, що підфарбовували середовище навколо себе, надаючи йому багряно-коричневий відтінок, за результатами тестів виявилися грам-позитивними та мали вигляд гіфів. За результатами сиквенсу ізолят було віднесено до роду *Streptomyces* sp. B7 зі збіжністю 99 %.

Колонії стрептоміцету другого морфотипу формували непрозорі борошністо-білі середні та крупні за розмірами конусоподібні колонії з бахромчастими краями та горбкуватою поверхнею, що підфарбовували субстрат, надаючи йому, залежно від розміру колонії, глибокого фіолетового кольору різної інтенсивності. Мікроорганізми мали вигляд гіфів та позитивну реакцію на забарвлення за методом Грама. Даний ізолят з гомологією у 99 % було ідентифіковано як *Streptomyces lavendulae* B15.

Наступні два ізоляти бактерій належали до роду *Burkholderia*. Так, перший ізолят бактерій, що формували прозоро-білі, схожі на краплинки, дрібні та середні за розмірами колонії з чітким краєм та рівною блискучою поверхнею. Представники даного ізоляту виявилися грам-негативними рухливими паличками. Виділені мікроорганізми було віднесено до виду *Burkholderia glathei* B6b з відсотком гомології, що склав 98 %. Другий ізолят бактерій, які утворювали забарвлені у помаранчевий колір середні за розміром колонії із чітким рівним краєм та рівною блискучою поверхнею, не забарвлювались по Граму та мали паличкоподібні рухливі клітини, було з 99 % гомологією ідентифіковано як *Burkholderia* sp. B11.

Лабораторні умови виявилися сприятливими для культивування ще одного ізоляту бактерій, що формували середні за розмірами білі непрозорі колонії з павутиноподібною структурою із сильно посіченим краєм та складчастою поверхнею. За результатами забарвлення та мікроскопіювання встановлено, що це грам-позитивні палички. Після сиквенсу ізолят було з 99 % гомологією ідентифіковано як *Bacillus mycooides* B1, що є факультативно анаеробним мікроорганізмом і відноситься до родини *Bacillaceae*.

Наступний ізолят формував середні за розміром непрозорі кратероподібні, з рівною поверхнею та чітким рівним краєм колонії жовтуватого кольору із затемненням у центрі, клітини якого виявилися грам-негативними паличками. Цей ізолят було з 97-відсотковою гомологією ідентифіковано як *Flavobacterium* sp. B2, що є грам-негативним аеробом.

У проаналізованих ґрунтах було виявлено також представника роду *Pseudomonas*. Бактерії ізоляту на поживному середовищі формували білі, напівпрозорі колонії з нечіткими, розмитими краями з рівною поверхнею та слизоподібною структурою, та виявилися грам-негативними паличками. За результатами сиквенс-аналізу бактерії є факультативно-анаеробними псевдомонадами виду *P. frederiksbergensis* B10, що на 100 % збігається зі зразком, просеквенованим для бази даних GenBank.

Наступним етапом нашої роботи був порівняльний аналіз мікроорганізмів, виділених із забрудненого радіонуклідами ґрунту та колекційних культур щодо їхньої здатності накопичувати в біомасі іони цезію.

Для порівняльного аналізу було обрано п'ять ізолятів, які були присутні в усіх зразках ґрунту. Згідно з гіпотезою представленого дослідження, мікроорганізми, що розвивалися під дією хронічного опромінення, можуть виявляти більшу толерантність до присутності радіонуклідів у субстраті. Тому для подальшого аналізу були обрані ізоляти, виділені з ґрунту з найбільшим радіонуклідним забрудненням (с. Копачі): *Burkholderia glathei* B6b, *Burkholderia* sp. B11, *Flavobacterium* sp. B2, *Pseudomonas frederiksbergensis* B10 та *Bacillus mycooides* B1. Результати дослідження

здатності цих бактерій, як і дані щодо здатності колекційних культур до акумуляції іонів  $^{137}\text{Cs}$  представлені у табл. 3.

Таблиця 3

**Акумуляція  $^{137}\text{Cs}$  різними видами ґрунтових мікроорганізмів, виділених з забруднених радіонуклідами ґрунтів та колекційними штамами**

№ з/п	Видова належність	Умови культивування	Питома активність біомаси, Бк/г	Інтенсивність акумуляції $^{137}\text{Cs}$ , ‰
1	<i>P. frederiksborgensis</i> B10	1*	72,6±17,1	0,51±0,04
		2	<0,4	**_
2	<i>Burkholderia glathei</i> B6b	1	106,2±20,9	0,56±0,03
		2	<0,4	–
3	<i>Burkholderia</i> sp. B11	1	259,4±41,5	1,33±0,12
		2	2,1±0,2	–
4	<i>B. mycoides</i> B1	1	82,4±12,4	0,33±0,05
		2	0,6±0,1	–
5	<i>Flavobacterium</i> sp. B2	1	92,1±2,4	0,46±0,08
		2	<0,4	–
6	<i>A. chroococcum</i> УКМ В-6003	1	183,2±52,9	1,46±0,19
		2	3,0±0,2	–
7	<i>A. chroococcum</i> УКМ В-6082	1	153,7±13,5	0,87±0,04
		2	0,7±0,1	–
8	<i>B. megaterium</i> УКМ В-5724	1	414,3±101,5	2,52±0,32
		2	1,1±0,2	–
9	<i>A. radiobacter</i> ІМВ В-7246	1	93,2±13,5	0,29±0,05
		2	0,6±0,1	–

**Примітка:** \* 1 – культивування з  $^{137}\text{Cs}$ , 2 – контроль, культивування без  $^{137}\text{Cs}$ .

\*\* – акумуляція відсутня.

Згідно з результатами досліджень, здатність до акумуляції йонів  $^{137}\text{Cs}$  властива для всіх проаналізованих мікроорганізмів і варіює в межах від 72,6±17,1 Бк/г біомаси (для *P. frederiksborgensis* B10), що становить 0,51±0,04 ‰, до 414,3±101,0 Бк/г (для *B. megaterium* УКМ В-5724), що становить 2,52±0,32 ‰ від загальної радіоактивності середовища.

Показано, що штам *B. megaterium* УКМ В-5724 виявив найбільшу з проаналізованих культур здатність до накопичення досліджуваного радіонукліду. Отримані нами результати значною мірою підтверджують літературні дані. Так, британські дослідники Johnson та ін. [12] встановили, що з-поміж мікроорганізмів, виділених з ґрунтів зони відчуження одразу після аварії, представник роду *Bacillus* мав найвищу здатність до накопичування радіонукліду. Цікаво, що інший вид досліджуваних нами бацил з цього ж роду продемонстрував, навпаки, низькі показники накопичення іонів цезію: *B. mycoides* B1, який було ізолювано з радіоактивно забруднених ґрунтів, мав у 7,5 разів нижчу здатність до накопичення цезію, ніж колекційна культура. Разом із тим, *P. frederiksborgensis* B10, як і штам *P. fluorescens* з названої вище роботи [12], виявили мінімальну здатність до накопичення. Відомо, що штам *B. megaterium* УКМ В-5724 досліджений в нашій роботі, використовується як біо-агент бактеріального препарату для покращення фосфорного живлення та стимуляції росту рослин [14]. Отже, виявляється можливою селекція штамів, які, разом із покращенням фосфорного живлення, будуть підвищувати перехід радіонуклідів у рослини, сприяючи очищенню території, що постраждала.

В наших дослідженнях обидва ізоляти, які належали до роду *Burkholderia*, показали найвищу серед бактерій, ізолюваних із забруднених радіонуклідами ґрунтів, здатність до накопичення цезію: 0,56 та 1,33 ‰ від загальної кількості радіонуклідів у середовищі. Можливо, бактерії цього роду є перспективними кандидатами до вне-

сення у систему ґрунт-рослина з метою фітореMediaції. Так, з літератури відомо, що бактерії роду *Burkholderia* посилюють перехід  $^{137}\text{Cs}$  з ґрунту у рослини *Phytolacca americana* та *Amaranthus cruentus* [15].

В результаті проведеної роботи було створено колекцію мікроорганізмів-компонентів мікробіоценозів забруднених радіонуклідами ґрунтів і проаналізовано їх здатність накопичувати  $^{137}\text{Cs}$ , а також порівняно з властивостями колекційних культур до накопичення радіонукліда. Визначено, що досліджені види мікроорганізмів можуть по-різному впливати на міграцію радіонукліда. Показано, що колекційний штам *B. megaterium* УКМ В-5724, не адаптований до наявності  $^{137}\text{Cs}$  у поживному середовищі, має підвищену здатність до накопичування радіонукліду.

**О.Ю. Паренюк<sup>1</sup>, О.В. Мошинец<sup>2</sup>, Л.В. Титова<sup>3</sup>, С.Е. Левчук<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев*

<sup>2</sup> *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев*

<sup>3</sup> *Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев*

<sup>4</sup> *УкрННІІ сільськогосподарської радіології НУБіП України, Київ*

### **КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ДОМИНИРУЮЩИХ ФОРМ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ ПОЧВ, И ИХ СПОСОБНОСТЬ К АККУМУЛЯЦИИ $^{137}\text{Cs}$**

#### **Резюме**

Изучен качественный состав доминирующих культивируемых форм микроорганизмов, выделенных из загрязненных радионуклидами почв. Проанализирована способность к аккумуляции  $^{137}\text{Cs}$  свежевыделенными изолятами и коллекционными культурами, которые не были адаптированы к наличию радионуклида. Показано, что из исследованных микроорганизмов наибольшую способность к аккумуляции радионуклида имеет коллекционная культура *Bacillus megaterium* УКМ В-5724.

**Ключевые слова:** радионуклидное загрязнение, аккумуляция  $^{137}\text{Cs}$ , микробиоценоз.

**O.J. Pareniuk<sup>1</sup>, O.V. Moshynets<sup>2</sup>, L.V. Tytova<sup>3</sup>, S.E. Levchuk<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv*

<sup>2</sup> *Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

<sup>3</sup> *Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

<sup>4</sup> *Ukrainian Institute of Agricultural Radiology of NUBiP of Ukraine, Kyiv*

### **QUALITATIVE COMPOSITION OF DOMINATING FORMS OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM RADIONUCLIDE CONTAMINATED SOIL AND THEIR ABILITY TO ACCUMULATE $^{137}\text{Cs}$**

#### **Summary**

Qualitative composition of the dominating forms of microorganisms isolated from radionuclide contaminated soils has been studied. The ability to accumulate  $^{137}\text{Cs}$  by freshly isolated species and collection cultures that were not adapted to the presence of the radionuclide has been analyzed. It is shown that among the analyzed microorganisms the greatest ability to accumulate the radionuclide is inherent to the collection culture *Bacillus megaterium* UKMV-5724.

The paper is presented in Ukrainian.

**Key words:** radionuclide contamination, accumulation of  $^{137}\text{Cs}$ , microbocoenosis.

**The author's address:** Pareniuk O.J., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroiv Oborony St., 15, Kyiv, 03041, Ukraine.

*І. Григор'єва Л. В., Корчак Г. І., Єрусалимська Л. Ф., Бережна Т. І.* Вплив різних рівнів радіаційного забруднення ґрунту на індикаторні та патогенні мікроорганізми // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 1. – С. 53–56.

2. Жданова Н. Н., Василевская А. И., Артышкова Л. В., Гаврилюк В. И., Лашко Т. Н., Садовников Ю.С. Комплексы почвенных микромицетов в зоне влияния Чернобыльской АЭС // Микробиол. журн. – 1991. – **53**, № 4. – С. 3–9.
3. Жданова Н. Н., Василевская А. И., Захарченко В. А. Микромицеты почв, загрязненных в результате Чернобыльской катастрофы, и их вклад в процессы миграции радионуклидов // Биоиндикация радиоактивных загрязнений. – М.: Наука, 1999. – С. 352–356.
4. Калашишкова З. В., Корчак Г. И., Карачев И. И., Григорьева Л. В., Ерусалимская Л. Ф., Волощенко В. О., Троян Л. В., Бережная Т. И. Оценка доступности радионуклидов растениям при разных условиях жизнедеятельности микробиоценозов почвы // Проблемы Чернобыльской зоны отчуждения. – 1996. – № 3. – С. 168–174.
5. Каппаров В.А. Радиоактивное загрязнение 30-км зоны ЧАЭС [Электронный ресурс] : интерактивная база данных / Каппаров В.А., Луцдин С.М., Хомутигин Ю.В., Каминский С.П., Левчук С.Е., Йощенко В.И., Зварич С.И., Процак В.П., Журба М.А., Ланшин В.П., Кадьгроб А.М., Проскура Н.И. (УкрНИИСХР), N.Ahamdach, J.-M.Peres, Ph.Guillou /700 MB. – Киев : Украинский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии (УкрНИИСХР), 2001. – 1 электрон. опг. диск (CD-ROM); 12 см — Систем. вимоги: Pentium; 32 Mb RAM; Windows 95, 98, 2000, XP; MS Word 97-2000.
6. Кравченко И. К., Семенов А. М., Дедыш С. Н., Сизова М. В., Паников Н. С. Анализ природных популяций микроорганизмов в почвах, подвергнутых воздействию аварии на ЧАЭС // Биоиндикация радиоактивных загрязнений. – М.: Наука, 1999. – С. 313–322.
7. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 399 с.
8. Одум Ю. Экология. – М.: Мир, 1986. – Т.2. – 376 с.
9. Рокитко П.В. Склад бактерій в 10-км зоні ЧАЕС і їх стійкість до гамма-випромінювання та інших стресових факторів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.07 “мікробіологія”/ П.В. Рокитко – К., 2003. – 20 с.
10. Сердюк А. М., Корчак Г. И., Григор'єва Л. В., Бей Т. В., Єрусалимська Л. Ф., Карачов І. І., Антомонов М. Ю. Еколого-мікробіологічні зміни в ґрунті при радіаційному забрудненні // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 3. – С. 54–57.
11. ASTM Standard E181 – 10. Standard Test Methods for Detector Calibration and Analysis of Radionuclides: DOI: 10.1520/C0033-03. Valid since 2003. – ASTM International, West Conshohocken. – 2003. – 21 с. – (Committee E10.05 on Nuclear Radiation Metrology)
12. Johnson E.E., O'Donnell A.G., Ineson P. An autoradiographic technique for selecting Cs-137-sorbing microorganisms from soil // J. Microbiol. Meth. – 1991. – **13**, N 27. – P. 293–298.
13. Nakamura T., Tokuda H., Unemoto T. Effects of pH and monovalent cations on the potassium ion exit from the marine bacterium, *Vibrio alginolyticus*, and the manipulation of cellular cation contents // Biochim. biophys. acta. – 1999. – **692**, N 23. – P. 389–396.
14. Rodríguez H., Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion // Biotechnology Advances. – 1999. – N 17. – P. 319–339.
15. Shirong Tang, Shangqiang Liaoa, Junkang Guoa, Zhengguo Songa, Ruigang Wang, Xiaomin Zhouc. Growth and cesium uptake responses of *Phytolacca americana* Linn. and *Amaranthus cruentus* L. grown on cesium contaminated soil to elevated CO<sub>2</sub> or inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium *Burkholderia* sp. D54, or in combination // J. Hazardous Materials. – 2011. – N 198. – P. 188–197.
16. Tomioka N., Uchiyama H., Yagi O. Isolation and characterization of cesium-accumulating bacteria // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – **58**, N 75. – P. 1019–1023.
17. Turner S., Pryer K.M., Miao V.P.W., Palmer J.D. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis // J. Eukaryotic Microbiology. – 1997. – N 46. – P. 327–338.

Отримано 12.09.2012